

UNIVERSITE DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1924-1925 - N° 39

ÉTUDE CRITIQUE

DE

Quelques Méthodes de Dosage des Phosphates

DANS LES LIQUIDES DE L'ORGANISME

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le vendredi 19 Décembre 1924

PAR

Philippe-Paul ROBERT

ÉLÈVE DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE

Né à Toulon (Var), le 1^{er} Avril 1899

Examinateurs de la Thèse

MM. DENIGÈS, professeur	Président
LE DANTEC, professeur	
MANDOUL, professeur	Juges
DUPÉRIÉ, agrégé	

BORDEAUX

IMPRIMERIE A. SAUGNAC & E. DROUILLARD

3, Place de la Victoire, 3

1924

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

UNIVERSITE DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1924-1925 - N° 39

ÉTUDE CRITIQUE

DE

Quelques Méthodes de Dosage des Phosphates

DANS LES LIQUIDES DE L'ORGANISME

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le vendredi 19 Décembre 1924

PAR

Philippe-Paul ROBERT

ÉLÈVE DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE

Né à Toulon (Var), le 1^{er} Avril 1899

Examineurs de la Thèse	{	MM. DENIGÈS, professeur	<i>Président.</i>
		LE DANTEC, professeur	<i>Juges</i>
		MANDOUL, professeur	
		DUPÉRIÉ, agrégé	

BORDEAUX

IMPRIMERIE A. SAUGNAC & E. DROUILLARD

3, Place de la Victoire, 3

1924

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. SIGALAS, *doyen*.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. LANELONGUE, BADAL, PITRES, ARNOZAN, POUSSON, VILLAR.

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique médicale	VERGER.	Clinique ophtalmologique...	LAGRANGE
	CASSAET.	Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	N...
Clinique chirurgicale	CHAVANNAZ.	Clinique gynécologique.....	GUYOT.
	BÉGOUIN.	Clinique médicale des maladies des enfants.....	MOUSSOUS.
Pathologie et thérapeutique générales....	CRUCHET.	Chimie biologique et médicale.....	DENIGES.
Clinique d'accouchements ..	RIVIÈRE.	Physique pharmaceutique...	SIGALAS.
Anatomie pathologique et microscopie clinique	SABRAZÈS.	Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques.	LE DANTEC.
Anatomie.....	PICQUÉ.	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	W. DUBREUILH
Anatomie générale et histologie.....	G. DUBREUIL	Pathologie externe et chirurgie opératoire et expérimentale.....	N...
Physiologie	PACHON.	Clinique des maladies nerveuses et mentales.	ABADIE.
Hygiène.....	AUCHÉ.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....	MOURE.
Médecine légale et déontologie	LANDE.	Toxicologie et hygiène appliquée.....	BARTHE.
Physique biologique et clinique d'électricité médicale.	BERGONIÉ.	Hydrologie thérapeutique et Climatologie.....	SELLIER.
Chimie.....	CHELLE.		
Botanique et matière médicale	BEILLE.		
Pharmacie.....	DUPOUY.		
Zoologie et parasitologie....	MANDOUL.		
Médecine expérimentale	FERRÉ.		

MM. PRINCETEAU (Anatomie). — LABAT (Pharmacie).

CARLES (Thérapeutique et pharmacologie). — PETGES (Vénérologie).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie et embryologie....	VILLEMIN.	Médecine générale.....	MICHELEAU.
Histologie.....	LACOSTE.		BONNIN.
Physiologie.....	DELAUNAY.	Maladies mentales.....	PERRENS.
Anatomie pathologique.....	MURATET.		ROCHER.
	R. SIGALAS.	Chirurgie générale	DUVERGEY.
Parasitologie et sciences naturelles.....	N...		PAPIN.
Physique biologique et médicale.....	RÉCHOU.		JEANNENEY.
Chimie biologique et médicale	N...	Obstétrique.....	PERY.
	MAURIAC.		FAUGÈRE.
Médecine générale.....	LEURET.	Ophtalmologie	TEULIÈRES.
	DUPÉRIÉ.	Oto-rhino-laryngologie.....	PORTMANN.
	CREYX.	Pharmacie	GOLSE.



COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Clinique dentaire.....	CAVALIÉ.	Clinique des maladies des voies urinaires ..	DUVERGEY.
Médecine opératoire.....	PAPIN.	Démonstrations et préparations pharmaceut.	LABAT.
Accouchements.....	FAUGÈRE.	Chimie pharmaceutique.....	GOLSE.
Ophtalmologie	CABANNES.	Chimie minérale.....	N...
Puériculture	ANDÉRODIAS.	Hygiène appliquée.....	N...
Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes			ROCHER.
Cours complémentaire annexe. - Prothèse et rééducation professionnelle...			GOURDON.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A MA MÈRE

A MON PÈRE

Qui fut mon premier maître et qui par son
cœur comme par sa pensée demeurera
toujours pour moi l'idéal le plus élevé.

A MON ONCLE LE CHANOINE SOUNCE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ DUPÉRIÉ

MÉDECIN DES HÔPITAUX

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL BARTHÉLÉMY

DIRECTEUR DE L'ÉCOLE PRINCIPALE
DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE
COMMANDEUR DE LA LÉGION D'HONNEUR
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE DOCTEUR DENIGÈS

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOCTEUR ÈS SCIENCES

CORRESPONDANT NATIONAL DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AVANT-PROPOS

En terminant ce modeste travail qui marque pour nous la première étape de notre vie médicale, il nous est agréable de jeter un regard en arrière et de remercier tous nos maîtres qui nous dispensèrent leur brillant enseignement.

Et parmi eux notre reconnaissance va particulièrement à M. le Professeur Agrégé Dupérié, qui nous inspira le sujet de notre thèse. Les heures passées à ses côtés dans son laboratoire resteront toujours pour nous les plus agréables et les plus intéressantes de notre vie d'étudiant, et notre regret est grand de n'avoir pas profité d'une façon plus assidue de ses conseils et de son exemple.

Et à M. le Professeur Denigès qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider notre thèse. Ses conseils nous ont été le plus précieux des guides dans des recherches pour lesquelles nous étions peu préparé.

Que nos camarades Pluchon et Huitric reçoivent nos remerciements pour l'aide qu'ils ont bien voulu nous apporter.

HISTORIQUE

Les techniques que nous possédons pour le dosage des phosphates dans les liquides de l'organisme, ne datent que de peu d'années.

Cependant dès 1850, Carl Schmidt étudiait cette question.

Elle fut reprise en 1857 par Happe Seyler; Jarisch en 1871, Woldridje en 1881; Morackzewki en 1892 poussèrent plus avant leurs recherches.

Denigès, en 1910, publie la première méthode clinique pratique du dosage des phosphates; il emploie un procédé diaphanométrie qui fait le sujet de la Thèse de Porte en 1914.

En 1914, Taylor et Miller emploient pour la première fois une méthode colorimétrique.

Enfin l'année 1920 voit la publication de trois méthodes fort intéressantes, l'une pondérale de Posternack, les deux autres colorimétriques; l'une due à Denigès, l'autre aux américains Bell et Doisy.

CHAPITRE PREMIER

Les méthodes employées actuellement pour le dosage du phosphore dans le sang ou dans les autres liquides de l'organisme peuvent se ramener à trois groupes principaux :

- Le procédé pondéral;
- Le procédé diaphanométrique;
- Le procédé colorimétrique.

Le dosage proprement dit doit être précédé d'opérations particulières suivant que l'on désire rechercher le phosphore total ou le phosphore inorganique.

Les procédés les plus communément employés sont la destruction des matières organiques pour obtenir le phosphore total et la précipitation des matières albuminoïdes pour isoler le phosphore inorganique.

Procédé pondéral. — Le procédé pondéral est celui que Posternack a publié dans le *Bulletin de la Société chimique de France* en 1920 et reproduit dans le *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux* en 1921.

C'est une méthode longue et délicate, mais fort précise. Elle consiste à précipiter le phosphore d'abord sous forme de phosphomolybdate d'ammonium. Pour cela on chauffe le liquide à examiner avec du sulfate d'ammonium. Le phosphomolybdate se dépose, on le recueille sur un filtre en papier et on le lave de façon à le débarrasser du molybdate en excès.

Puis après l'avoir dissous dans l'ammoniaque, on précipite le phosphore sous forme de phosphomolybdate de baryum au moyen de chlorure de baryum. Ce précipité a un poids moléculaire très élevé et représente plus de 130 fois le poids du phosphore qui entre dans sa composition. Il ne reste plus qu'à le laver, le sécher, le calciner et le peser.

Ce procédé est délicat, mais sa précision en fait la méthode de choix lorsqu'il s'agit d'atteindre à une grande exactitude.

Procédé diaphanométrie de Denigès. — Cette méthode a été publiée en 1910 dans le *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*. Elle repose sur le principe suivant:

Les phosphates à l'état de traces infinitésimales forment avec le réactif strychno-molybdique de Denigès un louche colloïdal. Ce louche indique par comparaison avec une échelle diaphanométrie la teneur en phosphore de la solution à examiner. Cette méthode est intéressante par le fait qu'elle n'exige que de très faibles quantités de liquide : deux gouttes de sang suffisent à Porte pour ce dosage.

Ce procédé a été employé par Porte (thèse, Bordeaux 1914) et par Borde (*Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux* 1921).

Les techniques de ces deux auteurs diffèrent peu : Porte détruit les matières organiques par incinération magnésienne, tandis que Borde préfère la destruction sulfonique. Porte emploie des proportions différentes de réactif strychno-molybdique, tandis que Borde incline pour la technique de Denigès qui lui donne des troubles plus légers et plus facilement contrôlables.

Procédé colorimétrique. — Taylor et Miller ont publié en 1911 une méthode colorimétrique : ces auteurs précipi-

tent les phosphates sous forme de phosphomolybdate d'ammonium et évaluent le molybdène ainsi précipité par colorimétrie après l'avoir réduit par la phénylhydrazine.

En 1920, les américains Bell et Doisy pensent qu'il est inutile de précipiter les phosphates et de les isoler comme le faisaient Taylor et Miller et qu'il suffit d'employer certains agents réducteurs qui agissent électivement sur l'acide phosphomolybdique et respectent l'acide molybdique. « *Il ne semble pas, disent-ils, que l'observation ait été faite jusqu'à présent, que certains agents réducteurs réduisent l'acide phosphomolybdique sans affecter l'acide molybdique.* »

Et cependant en 1920 également Denigès avait publié sa méthode céruléo-molybdique, où il préconise l'emploi comme réducteur du chlorure stanneux.

Ces deux méthodes nous ont paru être intéressantes à comparer, aussi est-il nécessaire de les examiner avec quelque détail.

Nous aurons surtout en vue dans cet exposé le phosphore inorganique dont le dosage est beaucoup plus important en clinique que celui du phosphore total.

Méthode américaine :

a) Précipitation des albumines. — On emploie l'acide trichloracétique dilué à 20 p. 100. 5 cc. de plasma sont mélangés à 15 cc. d'eau distillée dans un flacon jaugé de 25 cc. et 5 cc. d'acide trichloracétique sont ajoutés. Le flacon est rempli jusqu'au trait de jauge, on agite et après 10 minutes on filtre sur un papier ne contenant pas de phosphates.

Si on emploie le sang total on laque 5 cc. de sang avec 35 ou 40 centimètres cubes d'eau dans un flacon de 50 cc. et on ajoute 5 cc. d'acide trichloracétique.

b) A 10 cc. du filtrat, dans un flacon jaugé de 25 centi-

cubes, on ajoute 1 centicube de la solution d'acide molybdique (1) et 2 cc. de la solution d'hydroquinone (2).

D'autre part, dans un flacon de 25 centicubes, on verse une solution étalon de phosphate, et on y ajoute la même quantité d'acide trichloracétique, d'acide molybdique et d'hydroquinone. Après 5 minutes on ajoute 10 cc. de la solution carbonate-sulfite (3), on remplit les flacons au trait de jauge, on agite et on compare les couleurs après 5 ou 10 minutes.

Méthode céruléomolybdique de Denigès. — On précipite les albumines par l'acide trichloracétique à 20 % : à 1 centicube de sérum ou de plasma on ajoute 1 cc. d'acide et on agite. On filtre sur un petit filtre de 1 centimètre de diamètre, de façon à recueillir près d'un demi-centimètre cube de liquide clair. Cette opération est délicate lorsqu'on emploie moins de 1 centimètre cube de sérum et peut être remplacée avec avantage par une centrifugation énergique. Il faut alors recueillir avec une pipette le liquide surnageant.

Le filtrat ainsi obtenu est placé dans un tube à hémolyse à fond plat.

On y ajoute 2 gouttes de réactif sulfo-molybdique (4) et après 5 minutes on ajoute une goutte de chlorure stanneux (5) préparé depuis peu, et au bout de 5 minutes on

(1) Solution d'acide molybdique obtenue en dissolvant 50 grammes de molybdate d'ammonium dans un litre d'acide sulfurique normal et ne contenant pas de phosphore.

(2) Solution d'hydroquinone : 20 grammes d'hydroquinone dissous dans un litre d'eau auquel on ajoute 1 cc. d'acide sulfurique concentré.

(3) Solution carbonate-sulfite à 2 000 cc. d'une solution à 20 % de Na_2CO_3 on ajoute 75 grammes de sulfite de sodium dissous dans 500 centimètres cubes d'eau.

(4) Réactif sulfomolybdique préparé en mélangeant volumes égaux d'une solution aqueuse de molybdate d'ammonium à 10 % et d'acide sulfurique pur.

(5) Chlorure Stanneux : mettre dans un tube à essai 0 gr. 10 d'étain en feuilles minces puis ajouter 2 cc. d'acide chlorydrique pur et une goutte de solution à 3 ou 4 % de sulfate de cuivre. Maintenir à très douce chaleur jusqu'à dissolution, étendre à 10 cc. avec de l'eau, laisser refroidir et s'il y a un dépôt décanter la partie claire qui constitue le réactif cherché.

compare la couleur bleue ainsi obtenue avec une solution étalon de phosphate à laquelle on a ajouté les mêmes réactifs. (Nous avons remarqué que si on chauffe le tube après l'addition de réactif sulfomolybdique jusque vers 60 ou 70 degrés, on pouvait ajouter sans attendre le chlorure stanneux, la couleur bleue apparaît alors immédiatement, et son intensité n'est altérée ni en plus ni en moins.)

CHAPITRE II

La comparaison des deux méthodes — américaine et céruléomolybdique, — fait ressortir certaines analogies et certaines oppositions qu'il nous a paru intéressant de souligner.

1° Bell et Doisy diluent le sérum assez fortement : une partie de sérum pour 4 parties d'eau et d'acide trichloracétique, ou une partie de sang dans 10 parties d'eau et d'acide.

Denigès emploie parties égales de sérum et d'acide.

2° Le réactif molybdique employé dans les deux méthodes est sensiblement le même pour la teneur en molybdate, mais beaucoup plus acide dans le procédé Denigès.

3° Le réducteur employé est l'hydroquinone pour la méthode américaine et le chlorure stanneux pour la méthode française.

4° Bell et Doisy ajoutent à la fin de l'opération une solution de carbonate sulfite destinée à intensifier la couleur bleue obtenue et à éliminer la nuance verdâtre due à la présence de la quinone.

Rien d'analogue dans le procédé Denigès.

Nous avons essayé de rechercher l'influence sur le résultat final de ces différentes façons de procéder et pour cela nous avons effectué plusieurs séries d'expériences.

A) *Influence de l'acidité du filtrat.* — On dispose une série de onze petits tubes à essai dans chacun desquels on

verse 1 cc. d'une solution de phosphate, contenant 1 milligramme de P^2O^5 pour 200 centimètres cubes. On ajoute à partir de la gauche de l'eau distillée : un centimètre cube dans le premier tube, neuf dixièmes de cc. dans le second, huit dixièmes dans le troisième et ainsi de suite, en diminuant de un dixième par tube jusqu'au dernier, dans lequel on ne met pas d'eau.

Ensuite on verse de l'acide trichloracétique à 20 %. Dans le premier tube, où l'on a versé un centimètre cube d'eau, on ne met pas d'acide. Dans le second, on met un dixième de centimètre cube, dans le troisième on en met deux dixièmes et ainsi en suivant jusqu'au dernier tube qui reçoit un centimètre cube d'acide.

Nous avons donc une série de tubes renfermant chacun la même quantité de phosphate, et des proportions croissantes d'acide trichloracétique, le tout ramené au même volume.

Puis on pratique la réaction céruléomérybdique : D'abord on compte dans chaque tube 2 gouttes de réactif molybdique de Denigès, puis une goutte de chlorure stanneux. On voit alors s'établir dans la série des tubes une gamme colorée de bleu, variant du bleu intense dans le tube n° 1 jusqu'à un bleu presque incolore et teinté de vert dans le dernier.

Si alors on établit dans cette série de tubes des épaisseurs différentes de liquide pour obtenir par transparence des éclaircissements égaux, on trouve que les épaisseurs sont régulièrement croissantes du premier tube jusqu'au dernier et que celui-ci est de vingt à quarante fois plus considérable que le premier. (Cette proportion très variable de 20 à 40 tient à la petite quantité de liquide à examiner et à la difficulté qui en résulte au point de vue colorimétrie).

On voit donc le rôle considérable que joue l'acide dans l'intensité terminale de la réaction. L'idée de neutraliser cet acide conduit immédiatement à effectuer une autre série d'expériences, dans laquelle on dispose dans une

autre série de tubes la même quantité de phosphate, la même quantité d'acide et des proportions croissantes d'un alcalin quelconque. Nous avons répété cette expérience de nombreuses fois en faisant varier chaque fois un seul des facteurs : quantité de phosphate — quantité d'acide — quantité d'alcalin de différentes sortes (soude ou sulfite de soude) et le résultat était toujours identique dans ses variations : augmentation de l'intensité de la couleur bleue jusqu'à un certain taux d'acidité. Si l'acidité diminue trop, la réaction colorée ne se produit plus.

Dans ces dernières expériences, on remarque une certaine irrégularité dans l'accroissement de l'intensité de la couleur bleue, due au fait qu'il faut mesurer deux fois une très petite quantité — moins d'un centimètre cube de liquide — et que des erreurs de un centième de centicube répétées deux fois produisent des variations d'intensité notables.

B) *Influence du réducteur.* — L'hydroquinone donne une nuance verdâtre qu'il est nécessaire de faire disparaître pour l'exactitude de la lecture : c'est le rôle dévolu au sulfite. C'est encore une possibilité de faire des erreurs de dosage, peu sensibles, il est vrai, pour le résultat final.

Le chlorure stanneux donne un bleu pur. Il est nécessaire cependant de l'employer en quantité très petite. La plupart du temps, une goutte, ou une demi-goutte ou même moins, est suffisante.

Si on voit apparaître une nuance jaune, c'est que la quantité de chlorure est trop forte ou que la quantité de phosphate est trop faible.

Il nous a paru d'autre part que le bleu obtenu par le chlorure stanneux était plus intense que celui dû à l'hydroquinone. C'est pourquoi il est inutile d'ajouter du carbonate pour augmenter l'intensité.

C) *Influence de la dilution.* — Nous avons étudié par-

ticulièrement l'influence de la dilution et nous avons procédé à un grand nombre d'expériences portant, soit sur le sang total, soit sur le sérum et les globules et le résultat nous a amené à penser que c'était à la dilution qu'il fallait attribuer les différences considérables que l'on observe dans les diverses évaluations du taux du phosphate inorganique.

Après nous être procuré une certaine quantité de sérum, nous l'avons réparti par dose de 1 cc. dans une série de tubes. Puis, nous avons ajouté de l'eau distillée en quantité croissante. Dans le premier tube, il n'y avait que du sérum, dans le second, il y avait deux dixièmes de centimètre cube d'eau, dans le troisième, quatre dixièmes, et ainsi de suite jusqu'au dernier en augmentant de deux dixièmes de centimètre cube par tube la quantité d'eau ajoutée.

Au bout d'un certain temps, variant de 10 minutes à 48 heures, nous avons procédé au dosage par une des méthodes colorimétriques après avoir précipité les albumines par l'acide trichloracétique.

Les résultats ont toujours été constants dans leurs variations :

En donnant à la quantité de phosphate inorganique dosée dans le premier tube la valeur 1, nous trouvons dans les autres tubes les valeurs suivantes (ces chiffres sont des moyennes de vingt observations et sont obtenues en comparant les hauteurs différentes des liquides donnant des éclaircissements égaux) :

Tube n° 2	contenant 2 dixièmes de cc. d'eau.	1.25
— 3	— 4 — — —	1.75
— 4	— 6 — — —	2.40
— 5	— 8 — — —	3.50
— 6	— 1 cc. d'eau.....	4.75

Pour des dilutions plus fortes, les chiffres obtenus pré-

sentent de trop grands écarts pour pouvoir établir des moyennes. Pour une dilution de 5 fois son volume d'eau, un sérum nous a donné 10 fois la valeur observée sans dilution, tandis qu'un autre 2 fois seulement.

Si on opère sur du sang total ou sur des globules, la variation du taux des phosphates inorganiques est encore plus importante.

*
**

Pour résumer la comparaison des deux méthodes colorimétriques, nous voyons qu'il y a en faveur de la méthode céruléomolybdique de Denigès :

- a) Une plus grande simplicité dans les opérations;
- b) Un réducteur plus commode;
- c) Et surtout une moins grande dilution.

Ces différents avantages conduisent à une plus grande exactitude dans les résultats et nous nous étonnons que la plupart des auteurs tant français qu'étrangers, qui s'occupent de dosage de phosphore méconnaissent cette méthode et emploient surtout celle de Doisy et Bell.

CHAPITRE III

Nous avons vu le rôle considérable que peut avoir l'addition de très petites quantités d'eau au sérum, dans l'augmentation des phosphates inorganiques. Mais d'autres facteurs encore peuvent influencer sur les chiffres trouvés.

A ce point de vue, le temps joue un rôle important et, suivant que la recherche des phosphates inorganiques suit de quelques minutes la prise de sang, ou, au contraire, est reportée plusieurs heures après, pendant lesquelles le caillot est en contact avec le sérum, les chiffres sont très différents.

On trouve après 48 heures des valeurs 5 à 6 fois supérieures à celles trouvées une demi-heure après le prélèvement de sang.

Les radiations chimiques influent également et pour un échantillon de sérum exposé pendant 5 heures au soleil, la quantité de phosphate inorganique trouvée a été nettement supérieure à celle d'un autre échantillon du même sérum resté dans l'obscurité pendant le même temps.

Les chiffres trouvés étaient dans le rapport de 1 à 1.25.

Une remarque s'impose, qui a été faite par Zucker et Gutman (*Reprinted from the Proceedings of the Society for experim. Biology. and Med.*), c'est que la détermination du phosphate inorganique du sang est douteuse à cause de la facilité avec laquelle le phosphate organique soluble est hydrolysé et ces auteurs arrivent à émettre l'hypothèse suivante :

« Les Ions phosphates sont en réserve dans le globule

rouge sous forme de phosphate organique soluble. Ce phosphore est hydrolysé très facilement dans le plasma quand il y a besoin. »

Cela nous a amené à étudier l'hydrolyse des phosphates contenus dans les globules.

Nous nous sommes procurés des globules de mouton frais, après les avoir lavés avec du sérum physiologique ne contenant pas trace de phosphate. Nous les avons placés dans différentes conditions.

Dans une série de tubes, on verse un centimètre cube de globules et une certaine quantité de sérum, 10 centimètres cubes par exemple. Un quart d'heure après, on centrifuge le premier tube, et, dans le liquide surnageant qui est trouble et légèrement albuminoïde, nous dosons les phosphates inorganiques par la méthode Denigès. Après avoir précipité les albumines par l'acide trichloracétique, un quart d'heure après, on dose de la même façon les phosphates du second tube et tous les quarts d'heures on procède à de nouveaux dosages.

Et l'on constate que la quantité de phosphate décelable à la réaction céruléomolybdique est proportionnelle au temps pendant les 5 ou 6 premiers quarts d'heures. Ensuite le taux augmente plus lentement, jusqu'à rester stationnaire vers la cinquième ou la dixième heure d'après la dilution de l'expérience.

D'autre part, on dispose pour une autre série d'expériences des tubes à essai, où l'on verse un demi-centimètre cube de globules de mouton lavés et où l'on ajoute du sérum physiologique en quantité croissante : 1 centimètre cube dans le premier tube, 2 cc. dans le deuxième, etc., jusqu'à une dilution de 1 cc. de mouton pour 40 ou 50 centimètres cubes de sérum physiologique.

Au bout de plusieurs heures, on procède au dosage par la méthode Denigès du phosphore dans le liquide surnageant, et on constate que le taux du phosphore augmente dans les premiers tubes en proportion directe de

la dilution. A partir d'une certaine dilution, la quantité plus grande de phosphore ne compense plus la quantité plus grande de sérum et l'intensité de la couleur bleue qui avait augmenté dans les premiers tubes diminue.

Si le dosage suit de peu la dilution, le taux du phosphore augmente seulement dans les premiers tubes pour redescendre dans les tubes suivants, mais si le dosage se fait 24 ou 48 heures après la dilution, le taux augmente dans un beaucoup plus grand nombre de tubes.

Ces expériences peuvent servir en partie à étayer l'hypothèse de Zuker et Gutmann.

En possession de ces différentes notions qui nous indiquent que la quantité de phosphate inorganique trouvée augmente :

1° Avec le temps, dans le sérum après la sortie des vaisseaux;

2° Avec la dilution de ce sérum, on est amené à penser que les chiffres obtenus sont beaucoup trop élevés et que peut-être le phosphate inorganique ainsi mesuré n'est que le résultat de phénomènes qui se passent *in vitro* et que dans le sang circulant, la seule forme sous laquelle existe le phosphore, pourrait être le phosphore organique soluble.

Les variations observées dans les chiffres trouvés s'expliqueraient donc par les différentes manières de procéder des auteurs d'une part, mais aussi et surtout, par l'aptitude différente des phosphates organiques à s'hydrolyser, chez les différents individus.

En effet, quelques auteurs remarquent, que, si le phosphore inorganique présente une diminution marquée dans certaines conditions pathologiques, le taux du phosphore total est sensiblement le même chez la plupart des individus.

Dans le rachitisme, notamment, on observe par le dosage des phosphates, une diminution du phosphate inorganique alors que le phosphore total ne paraît pas modifié d'une façon sensible.

Pathogéniquement on peut penser que le rachitisme est caractérisé par une moins grande aptitude du phosphate à passer de la forme organique soluble sous laquelle il se présente dans le sang, à la forme inorganique, qui est celle des phosphates du tissu osseux.

Et le dosage que l'on fait des phosphates inorganiques, loin de donner le taux de ces phosphates dans le sang, ne renseigne que sur sa difficulté plus ou moins grande de prendre la forme inorganique.

Nous avons vu, d'autre part, que les rayons solaires avaient une influence sur l'hydrolyse des phosphates. Cette action que l'on peut mesurer *in vitro*, se produit également *in vivo* et l'on sait l'influence considérable de l'héliothérapie sur l'ossification des rachitiques.

Cette hypothèse expliquerait également le fait que chez des rachitiques, après l'ingestion d'une certaine quantité de phosphore minéral, le taux des phosphates inorganiques est augmenté rapidement, et peut même atteindre un chiffre considérable, mais si l'on cesse la médication phosphatée le taux ne tarde pas à baisser et à redevenir ce qu'il était auparavant.

L'action du soleil est différente et ses résultats sont beaucoup plus durables. On sait, d'autre part, l'influence des saisons ensoleillées sur l'évolution du rachitisme.

CONCLUSIONS

Nous déduisons de ce qui précède que, après avoir étudié d'une manière rigoureuse et systématique les méthodes cliniques actuelles de dosage du phosphore dans le sang (la méthode américaine et la méthode française), nous sommes en possession d'une méthode de dosage du phosphore dans les liquides de l'organisme, la seconde, celle du Professeur Denigès, fort précise, très simple et trop peu employée à notre avis.

D'autre part, les variations du taux du phosphore inorganique font penser que peut-être il ne se formerait qu'après la sortie du sang des vaisseaux et qu'il serait accru par les différentes manipulations que l'on fait subir au sérum.

Cette hypothèse, très vraisemblable, d'après nos déterminations, n'avait d'ailleurs jamais été formulée. Elle nous paraît ouvrir un nouveau champ d'études au métabolisme des phosphates dans l'organisme.

Vu :
Le Doyen,
C. SIGALAS.

Vu, bon à imprimer :
Le Président,
G. DENIGÈS.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 9 décembre 1924.

Le Recteur de l'Académie.
F. DUMAS.

BIBLIOGRAPHIE

- DENIGÈS. — *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, mai 1910.
- PORTE. — Thèse de Bordeaux, 1914.
- DENIGÈS. — *C. R. Académie des Sciences*, octobre 1920, t. 171, p. 802.
- BELL (Richard) et DOISY (E.-A.). — Rapid coloric method for determination of phosphorus in Urine and blood). *Journal of Biologic Chemistry*, XLIV, p. 55, octobre 1920.
- POSTERNACK. — *Bulletin de la Société Chimique de France*, 1920.
- HOWLAND (John) et KRAMER (Benjamin). — *American Journal of Diseases of Children*, vol. 22, p. 105, août 1921.
- BORDE. — *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 1921.
- IVERSON. — *Biochimic Zeitung* 1921, CXIV, p. 297.
- ZUCKER (F.) et GUTMAN (Margarett). — Distribution du Phosphore inorganique dans le plasma et les globules. *Reprinted from the Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medecine*, 1922, XIX, p. 167, 169.
- MEGSENBERG (von Ludo). — Phosphates inorganiques du lait des mères nourrices d'enfants rachitiques et d'enfants normaux. *Ann. Journal Diseases of children*, vol. 24, n° 3, 5 sept. 22, page 200.
- ANDERSON (Grace). — The calcium and Phosphorus content of the blood in Normal and Rachitic children, *The Bristish Journal of childrens Diseases*, n° 241 à 246, vol. XXI, 1924.

Bordeaux. — Imp. A. SAUGNAC & E. DROUILLARD, place de la Victoire, 3.
